

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike**

**Božidar Stojanac**

**ANEMIJA I UPALNE BOLESTI  
CRIJEVA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2017.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike**

**Božidar Stojanac**

**ANEMIJA I UPALNE BOLESTI  
CRIJEVA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2017.**

Rad je ostvaren pri Katedri za javno zdravstvo Medicinskog fakulteta sveučilišta Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku.

Mentor rada: prof. dr. sc. Maja Miškulin, dr. med.

Rad ima: 33 lista, 12 tablica

## *Zahvala*

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Maji Miškulin, dr. med na nesebičnoj pomoći i savjetima tijekom pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem pročelniku Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću, specijalistu medicinske biokemije.*

*Zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku.*

*Zahvaljujem udruzi oboljelih od upalnih bolesti crijeva Osijek ColonOs, a posebno gospođi Ozani Vignjević na suradnji pri izradi ovog rada.*

*Rad posvećujem svojoj obitelji koja mi je beskrajnim strpljenjem i bezuvjetnom podrškom omogućila izradu rada.*

## Sadržaj:

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
1.1. Upalne bolesti crijeva.....	1
1.1.1. Crohnova bolest.....	1
1.1.2. Ulcerozni kolitis .....	3
1.2. Anemija kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva .....	3
1.2.1. Sideropenična anemija .....	4
1.2.2. Anemija kronične bolesti (ACD) .....	4
<b>2. Hipoteza.....</b>	<b>6</b>
<b>3. Ciljevi.....</b>	<b>7</b>
<b>4. Ispitanici i metode .....</b>	<b>8</b>
4.1. Ustroj istraživanja .....	8
4.2. Ispitanici .....	8
4.3. Metode.....	8
4.3.1. Laboratorijska metoda određivanja željeza u serumu .....	9
4.3.2. Laboratorijska metoda određivanja nezasićenog slobodnog transferina ili UIBC-a 9	
4.3.3. Laboratorijska metoda određivanja transferina.....	10
4.3.4. Laboratorijska metoda određivanja feritina .....	10
4.3.5. Laboratorijska metoda određivanja C-reaktivnog proteina.....	10
4.3.6. Laboratorijska metoda određivanja kompletne krvne slike i retikulocita .....	11
4.3.7. Metoda impedencije .....	11
4.3.8. Optičko mjerenje protočnom citometrijom .....	11
4.4. Statističke metode .....	12
<b>5. Rezultati .....</b>	<b>14</b>
5.1. Demografske osobine ispitanika te vrijednosti odabranih pokazatelja u njihovoj krvnoj slici .....	14

5.3. Međudnos između pojavnosti anemije kod ispitanika te vrijednosti C-reaktivnog proteina u njihovoj krvi kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale.....	23
<b>6. Rasprava .....</b>	<b>26</b>
<b>7. Zaključci.....</b>	<b>29</b>
<b>8. Sažetak.....</b>	<b>30</b>
<b>9. Summary .....</b>	<b>31</b>
<b>10. Literatura .....</b>	<b>32</b>
<b>11. Životopis .....</b>	<b>33</b>

## POPIS KRATICA:

MC (*eng. Morbus Crohn*)- Crohnova bolest

CU (*eng. Ulcerative Colitis*)-Ulcerozni kolitis

IBD (*eng. Inflammatory bowel disease*)- Upalne bolesti crijeva

CIBD (*eng. Chronical inflammatory bowel disease*)- Kronična upalna bolest crijeva

IDA (*eng. Iron deficiency anemia* )-Anemija uzrokovana nedostatkom željeza

ACD (*eng. Anemia of chronic disease*)- Anemija kronične bolesti

CT (*eng. Computed tomography*)- kompjuterizirana tomografija

MRI (*eng. Magnetic resonance imaging*)- magnetska rezonancija

EPO (*eng. erythropoietin*)- eritropoetin

TIBC (*eng. Total Iron Binding Capacity*) - ukupna sposobnost vezanja željeza

UIBC (*eng. Unsaturated Iron Binding Capacity*) -nezasićeni (slobodni) transferin

MCV (*eng. Mean Corpuscular Volume, Mean Cell Volume*)-prosječni volumen eritrocita

MCH (*eng. mean cell hemoglobin*)-prosječna količina hemoglobina u eritocitu

MCHC (*eng. Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*) -prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitima

CRP (*C-reactive protein*)- C-reaktivni protein

NITROSO-PSAP (2-Nitroso-5-(N-propil-N- sulfopropilamino fenol)

DC(*eng. direct current* ) -niskofrekventna istosmjerna struja

RF (*eng. radio frequency*) –radiofrekvencija

DNA (*eng. deoxyribonucleic acid*) deoksiribonukleinska kiselina

RNA (*engl. ribonucleic acid*) ribonukleinska kiselina

SSC(*eng. Side scatter* )-bočno raspršenje

FSC (*eng. forward scatter*) -prednje raspršenje

SFL (*eng. side fluorescence light*)- bočna fluorescencija

TPTZ (2,4,6-tri-(2-piridil)-5-triazin)

HGB- hemoglobin

HTC-hematokrit

Fe-željezo

E-eritrocit

Rtc-retikulocit

SD-standardna devijacija

Min-minimalna vrijednost

Max-maksimalna vrijednost



## 1. Uvod

### 1.1. Upalne bolesti crijeva

Crohnovu bolest (MC) i ulcerozni kolitis (CU) ubrajamo u heterogenu skupinu bolesti zajedničkog naziva kronična upalna bolest crijeva (CIBD). Obje bolesti su po kliničkim manifestacijama slične, no ima i značajnih razlika zbog čega se ne zna radi li se o dvije bolesti ili o dva entiteta jedne te iste bolesti (1). Kod 10 % bolesnika s kroničnom upalnom bolesti crijeva, čak ni nakon adekvatno provedene dijagnostičke obrade, nije moguće razlikovati ulcerozni kolitis od Crohnove bolesti, što odgovara intermedijarnom tipu IBD-a (1).

Iako je etiologija tih bolesti nepoznata, ona uključuje kompleksne interakcije okoliša, gena i mikrobnih te imunoloških faktora. Najveći je napredak postignut u genetskom istraživanju tih crijevnih upala; posljednja su istraživanja utvrdila 163 genska lokusa za IBD. Osim gena, veliku ulogu igraju i imunološke reakcije. Ostali faktori koji negativno utječu na pojavu bolesti su loša prehrana, pušenje, droge, socijalni stres i ostali psihološki faktori, a neka istraživanja upućuju da nedostatak vitamina D također ima ulogu u povećanju rizika razvijanja bolesti (2).

Bolest se često pojavljuje u Židova i bijelaca, u razvijenim zemljama Europe i Sjeverne Amerike. Zapadna i sjeverna Europa imaju incidenciju 6 - 8 slučajeva na 100 000 stanovnika i prevalenciju 70 - 150 slučajeva na 100 000. Središnja i južna Europa imaju nižu učestalost s incidencijom 2 - 3 slučaja na 100 000 stanovnika u Mađarskoj, Češkoj, Slovačkoj i sjevernoj Italiji. Oba su spola podjednako zahvaćena s blagom prevagom žena u starijoj dobi (3).

#### 1.1.1. Crohnova bolest

Crohnovu bolest karakteriziraju raznovrsne kliničke manifestacije pa je ona naizgled složeniji upalni proces od ulceroznog kolitisa. Glavna karakteristika Crohnove bolesti je nakupljanje makrofaga i limfocita ne samo u sluznici gastrointestinalnog trakta nego i prodiranje u dublje slojeve stijenke crijeva pri širenju upalnog procesa. Javljaju se čirevi koji u početku nalikuju aftama, a napredovanjem se bolesti produbljuju i nalik su pukotinama. Nakupljanje makrofaga kod 50 % pacijenata dovodi do razvoja granuloma (1).

Bilo koji dio probavne cijevi može biti zahvaćen, od usne šupljine do anusa, no Crohnova bolest najčešće zahvaća završni dio ileuma. Crohnovu bolest karakterizira upala lokalizirana na pojedine dijelove gastrointestinalnog trakta. Pacijenti koji boluju od te bolesti imaju narušenu ravnotežu crijevne flore; smanjena je raznovrsnost i zastupljenost mikroorganizama koji imaju pozitivan utjecaj na organizam, a povećana zastupljenost štetnih bakterija koje prodiru kroz sluznicu crijeva. Istraživanja su pokazala da kod pacijenata koji boluju od upalne bolesti crijeva postoji pet puta veći rizik obolijevanja od raka debelog crijeva (3).

Ne postoji specifična laboratorijska pretraga za Crohnovu bolest; u krvi bolesnika najčešće su prisutni nespecifični poremećaji poput: ubrzane sedimentacije, povišenog broja leukocita, manjka eritrocita, niske razine albumina u krvi, povišene vrijednosti C-reaktivnog proteina i drugih pokazatelja upale. Nakon krvnih pretraga, specifična pretraga za potvrdu bolesti je kolonoskopija s biopsijom uzorka sluznice crijeva. Može se učiniti i irigografija (rendgensko snimanje s barijevom kašom) te kolor-dopler ultrazvučni pregled. CT i MR također mogu pokazati radi li se o Crohnovoj bolesti, ali se ne koriste u njezinom otkrivanju.

Crohnova se bolest pojavljuje najčešće u bijelaca, Židova i stanovnika razvijenih zemalja Europe i Sjeverne Amerike. Bolest je relativno rijetka s porastom incidencije u zadnjih nekoliko desetljeća. Prevalencija bolesti je 10 - 70 slučajeva na 100 000 stanovnika. Bolest se javlja u svim dobnim skupinama, a najčešće počinje između 15. i 30. godine života; oba su spola podjednako zahvaćena (3).

Liječenje bolesti ovisi o proširenosti i aktivnosti bolesti te prisutnosti ekstraintestinalnih i intrainestinalnih komplikacija. Osnovni je cilj liječenja kontrola upalnog procesa i nadomjestak hranidbenih gubitaka, najčešće odgovarajućom dijetom kojom se bolest može dovesti do remisije. Medikamentno liječenje uključuje Sulfasalazin i glukokortikosteroide. Kirurška terapija u vidu resekcije tankog ili debelog crijeva primjenjuje se ako su prisutne komplikacije (3).

### 1.1.2. Ulcerozni kolitis

Ulcerozni kolitis je idiopatska kronična upalna bolest debelog crijeva. Karakterizirana je relapsima i remisijama bolesti. Ulceracije sluznice debelog crijeva, krvavi proljevi, grčevi u trbuhu i povišena temperatura tipični su za ulcerozni kolitis. Bolest obično prvo zahvaća rektum, gdje može ostati lokalizirana (ulcerozni proktitis), ili se može proširiti i proksimalno te zahvatiti cijeli kolon. U rijedim je slučajevima zahvaćen veći dio debelog crijeva.

Upalni proces zahvaća sluznicu i podsluznicu, uz oštru granicu između zahvaćene sluznice i zdrave sluznice. Mišićni sloj može biti zahvaćen u težim slučajevima bolesti. U ranoj fazi ulceroznog kolitisa, sluznica je eritematozna, fino granulirana i vulnerabilna uz nestajanje normalnog vaskularnog crteža i brojne hemoragične zone. Veliki ulkusi sluznice uz gnojni eksudat karakteristični su za teže slučajeve bolesti. Otoci relativno normalne ili hiperplastične sluznice (pseudopolipi) oslikavaju se iznad zona ulcerozno promijenjene sluznice. Fistule i apscesi ne nastaju (3).

## 1.2. Anemija kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva prate mnoge ekstraintestinalne manifestacije koje uključuju eritreme, urtikarije i dermatitise na koži, u 12 % slučajeva javlja se aftozni stomatitis, konjunktivitis i retinopatija. Kod 20 – 40 % oboljelih od upalnih bolesti crijeva može doći do steatoze jetre te perikolangitisa, 18 – 20 % može pokazivati znakove sakroileitisa, dok 3 – 22 % oboljelih od Crohnove bolesti može razviti artritis (3). Najveći stupanj komorbiditeta s upalnim crijevnim bolestima ima anemija.

Anemija je koncentracija hemoglobina u krvi ispod normalne razine za pojedinu dob i spol. Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije, kod odraslih je muškaraca anemija prisutna ako je koncentracija hemoglobina manja od 130 g/L, a kod žena 120 g/L. Kada cirkulirajuća masa eritrocita ne zadovoljava potrebe organizma za kisikom, govorimo o anemiji (4).

Anemija ima čest komorbiditet s upalnom bolesti crijeva i pridonosi smrtnosti pacijenata koji boluju od te bolesti, negativno utječe na kvalitetu života i sposobnosti oboljelih za rad. Liječenje anemije popravljajući te probleme, ali dijagnoza i liječenje anemije kod pacijenata s IBD-om nisko je na ljestvici prioriteta kod gastroenterologa. Provedeno je istraživanje koje je

pokazalo da je trećina ispitanika s IBD-om bila anemična, a samo je 54,3 % primilo terapiju za liječenje anemije (5).

Učestalost anemije kod pacijenata s IBD-om je između 6 % i 74 % (27 % kod pacijenata s CD-om i 21 % kod pacijenata s UC-om). Anemija je učestalija kod pacijenata s Crohnovom bolesti, nego kod pacijenata s ulceroznim kolitisom (5).

Dijagnoza anemije je problematična jer njezina definicija nije homogena. Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije, kriterij za dijagnozu anemije je razina hemoglobina, ali taj kriterij ne uzima u obzir rasne razlike, različitu prehranu i uvjete življenja. Ova definicija ne može odraziti pravu učestalost anemije kod različitih IBD populacija. Učestalost anemije ovisi o grupama pacijenata koje su proučavane (hospitalizirani pacijenti naspram vanjskih pacijenata). Nadalje, učestalost anemije mijenja se s vremenom – učestalost blage anemije kod pacijenata s IBD-om je opala (zbog poboljšanih metoda liječenja), dok je učestalost teške anemije kod pacijenata s IBD-om ostala jednaka u intervalu od 10 godina (6).

Kod pacijenata s IBD-om, dominantna su dva tipa anemije: anemija uzrokovana nedostatkom željeza i anemija kronične bolesti.

### **1.2.1. Sideropenična anemija**

Anemija uzrokovana nedostatkom željeza (IDA) najučestaliji je oblik anemije kod bolesnika s IBD-om (90 %). Nedostatak željeza može biti uzrokovan prehranom s niskim unosom željeza ili gubitkom krvi zbog ulceroznih fistula na sluznici crijeva.

### **1.2.2. Anemija kronične bolesti (ACD)**

Peptidni hormon hepcidin regulira homeostazu željeza u organizmu, a proizvodi se kao odgovor tijela na visoku koncentraciju željeza. Upalni uvjeti bolesti ometaju apsorpciju željeza povećanjem koncentracije hepcidina koji inhibira aktivnost feroportina. Inhibicijom feroportina, koji transportira željezo iz enterocita u krvotok, dolazi do retencije željeza u crijevnim stanicama. Upalni procesi također inhibiraju transkripciju feroportina, dolazi do smanjenja životnog vijeka eritrocita zbog oksidativnog stresa i lipidne peroksidacije. Svi ti

mehanizmi vode do funkcionalnog nedostatka željeza, koje, iako je prisutno u tijelu, nije raspoloživo eritrocitima (5).

Učestalost tog tipa anemije kod pacijenata s IBD-om nije poznata. Taj tip anemije nastaje zbog promjena u eritropoezi. Kronična upala ometa eritropoezu djelovanjem interferona koji potiču apoptozu stanica. Sinteza eritropoetina je smanjena kao i njegova biološka aktivnost. Razina eritropoetina (EPO) kod pacijenata s IBD-om je toliko niska da je neučinkovita (5).

Ovo je prvo istraživanje provedeno u Hrvatskoj koje nastoji utvrditi učestalost i značenje pojavljivanja anemije kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva.

## **2. Hipoteza**

Anemija je jedna od najučestalijih komplikacija kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva čije je značenje u liječenju oboljelih često zanemareno.

### 3. Ciljevi

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

1. Utvrditi učestalost anemije u odraslih osoba (18 i više godina) oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske,
2. Utvrditi vrstu utvrđene anemije kod ispitanika,
3. Utvrditi postoje li razlike u učestalosti i vrsti anemije utvrđene kod oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa,
4. Utvrditi postoji li povezanost između pojavnosti anemije te vrijednosti C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih pacijenata kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale.

## 4. Ispitanici i metode

### 4.1. Ustroj istraživanja

Provedeno istraživanje ustrojeno je po načelu *cross-sectional* studije odnosno kao tipična metoda istraživanja presjeka ili prevalencije. Tom se metodom analitičkog istraživanja u epidemiologiji istodobno istražuje prisutnost bolesti te mogućeg uzročnog čimbenika u promatranoj populaciji odnosno skupini ispitanika (7).

### 4.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno od 1. lipnja 2016. godine do zaključno 31. siječnja 2017. godine među oboljelima od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske koji su u spomenutom razdoblju bili upućeni u Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek zbog laboratorijske analize krvi.

Ispitanici su u istraživanju sudjelovali dobrovoljno nakon potpisivanja informiranog pristanka slijedom čega je u ovom istraživanju korišten prigodan uzorak oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske.

Tijekom navedenog razdoblja u istraživanje je uključeno ukupno 78 oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske, a odaziv ispitanika bio je 97,5 % (78/80).

Provođenje ovog istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Osijek.

### 4.3. Metode

Iz uputne medicinske dokumentacije ispitanika (liječnička uputnica za obavljanje određenih laboratorijskih analiza krvi) prikupljeni su, za potrebe ovog istraživanja, podatci o dobi ispitanika, spolu ispitanika te vrsti upalne bolesti crijeva od koje boluju.

Laboratorijskom analizom krvi utvrđena je vrijednost serumskog željeza, TIBC-a (od eng. *Total Iron Binding Capacity*) ili ukupne sposobnosti vezanja željeza, UIBC-a (od eng. *Unsaturated Iron Binding Capacity*) ili nezasićeni (slobodni) transferin za koji nije vezano željezo, transferin, saturacija transferina, feritin, eritrociti, hemoglobin, hematokrit, MCV ili



prosječni volumen eritrocita, MCH ili prosječna količina hemoglobina u eritocitu; MCHC ili prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitima, retikulociti, CRP ili C-reaktivni protein.

Od svakog je ispitanika jednokratno uzorkovana krv u serumske BD vacutainer epruvete sa crvenim čepom i BD vacutainer epruvete s K<sub>2</sub>EDTA antikoagulansom koje imaju ljubičasti čep. Uzorkovalo se prema standardnoj metodi za uzorkovanje koja se koristi u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Uzorci u epruvetama sa crvenim čepom ostavljeni su pola sata na sobnoj temperaturi kako bi došlo do zgrušavanja. Uzorci se potom centrifugiraju 10 minuta na 3500 okretaja/min. Automatskom pipetom odvaja se serum u posebne kivete i stavlja u automatski analizator Olympus AU 680 (Beckman Coulter). Uzorci u epruvetama s ljubičastim čepom analiziraju se odmah u automatskom analizatoru XN-2000 (Sysmex).

##### **4.3.1. Laboratorijska metoda određivanja željeza u serumu**

Željezo u serumu kvantitativno je određeno fotometrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU680 na valnim duljinama 600/800 nm. Kao kromogen u metodi se koristi TPTZ reagens (2,4,6-tri-(2-piridil)-5-triazin).

Željezo vezano za transferin se u kiselom mediju razlaže na slobodne ione i apo-transferin. Natrij-askorbat i kloridna kiselina reduciraju feri-ione željeza u fero-ione željeza. TPTZ kromogen s fero-ionima željeza daje plavo obojeni spoj. Mjeri se porast apsorbancije koji je izravno proporcionalan koncentraciji željeza.

##### **4.3.2. Laboratorijska metoda određivanja nezasićenog slobodnog transferina ili UIBC-a**

UIBC (eng. *Unsaturated Iron Binding Capacity*) u serumu je kvantitativno određen fotometrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU680. Kao kromogen u metodi se koristi Nitroso-PSAP reagens.

Princip reakcije: Reagens 1 sadrži fero-ione željeza koji reagiraju s nitrozo-PSAP kromogenom iz reagensa 2 i stvara se zeleno obojeni kompleks. Pri dodavanju uzorka u

lužnatom mediju željezo se veže na slobodni dio transferina koji više nije raspoloživ za vezanje s nitrozo-PSAP reagensom. Mjeri se razlika u apsorbanciji reakcije s uzorkom i bez uzorka koja je jednaka količini željeza vezanog za transferin.

#### **4.3.3. Laboratorijska metoda određivanja transferina**

Transferin je u serumu kvantitativno određen imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU680.

Uzorak se pomiješa s R1 puferom i R2 reagensom u kojem su antihumana antitijela na transferin iz uzorka. U reakciji nastaju netopljivi agregati. Apsorpcija je proporcionalna koncentraciji transferina u uzorku pacijenta.

#### **4.3.4. Laboratorijska metoda određivanja feritina**

Feritin je u serumu kvantitativno određen imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU680.

Feritin reagens je otopina poliesterskih lateks čestica koje su jednake veličine i obložene poliklonskim zečjim anti-feritin antitijelima. Dodavanjem uzorka dolazi do reakcije aglutinacije. Mjeri se smanjenje intenziteta svjetlosti zbog apsorpcije, refleksije i raspršivanja nakon stvaranja aglutinina.

#### **4.3.5. Laboratorijska metoda određivanja C-reaktivnog proteina**

C-reaktivni protein je u serumu kvantitativno određen imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU680.

Uzorak seruma pacijenta se pomiješa s pufer reagensom R1 i reagensom R2 koji u svom sastavu ima lateks čestice obložene antitijelima na humani CRP. Nastaju netopljivi agregati čija je apsorpcija proporcionalna koncentraciji CRP-a u uzorku.

### 4.3.6. Laboratorijska metoda određivanja kompletne krvne slike i retikulocita

XN-2000 je hematološki automatski analizator na kojem su analizirani uzorci pune krvi u kojima je određen broj leukocita, eritrocita, hemoglobin, hematokrit, eritrocitne konstante (MCV, MCH, MCHC), broj retikulocita i trombocita. Hematološki analizator XN 2000 za brojanje leukocita i retikulocita koristi metodu protočne citometrije, dok za brojanje eritrocita i MCV-a koristi RF/DC metodu. U toj se metodi hemoglobin određuje spektrofotometrijski. Eritrocitne konstante se računaju matematički.

### 4.3.7. Metoda impendencije

Stanice koje se u strujnom krugu ponašaju kao izolator, u tankom sloju uzorka obavijene su otopinom koja se naziva *sheat fluid*. Otopina reagensa Cellpack DCL (Sysmex Corporation) sastavljena je od 0,7 % natrijevog klorida, 0,2 % tris pufera i 0,02 % K<sub>2</sub>EDTA. Reagens omogućuje da stanice ispred detekcijskog otvora prolaze jedna po jedna što se naziva hidrodinamičko fokusiranje. Osobine stanica detektiraju se pomoću promjene otpora niskofrekventne istosmjerne struje (engl. direct current, DC) i promjene u signalu radiofrekvencije (engl. radio frequency, RF). Promjena električnog otpora uzrokuje pojavu mjerljive promjene napona između dviju elektrodi. Broj nastalih promjena proporcionalan je broju stanica, a veličina promjene napona volumenu stanice. Kada kroz detekcijski otvor prođe stanica s gušćom i kompleksnijom citoplazmom (8), javlja se promjena signala radiofrekvencije.

### 4.3.8. Optičko mjerenje protočnom citometrijom

Protočna citometrija je metoda kojom se mjere fizikalna svojstva stanica; raspršenje svjetlosti i fluorescencije koja nastaje prolaskom kroz fokusnu lasersku zraku daje informacije o građi stanice. Svojstva koja se mjere su veličina i granuliranost stanica te relativni intenzitet

fluorescencije vezanih fluorokroma. Bitna karakteristika protočne citometrije je da se svaka stanica pojedinačno analizira.

Reagens Lysercell WDF (Sysmex Corporation) pomoću neionskog surfaktanta mijenja propusnost membrane stanica i u njihovu citoplazmu ulazi boja polimetin (reagens Fluorocell WDF, Sysmex Corporation). Polimetin se veže na DNA i RNA stanica.

Zbog razlike u tlaku, uzorak kroz sustav protječe laminarno. Tanki mlaz uzorka obavijen je otopinom koja čini "oklop" (engl. sheath fluid) oko stanica i usmjerava ih da prolaze kroz centar protočnice. Laminarni protok omogućuje centralnoj struji uzorka da se dovoljno suzi kako bi se stanice odvojile i postavile u liniju jedna iza druge. Tako se hidrodinamički fokusirana struja uzorka usmjeri na izvor svjetla poluvodičkog lasera. Kako stanice prolaze kroz detekcijsko područje, prekidaju zraku svjetlosti i ona se rasipa u svim smjerovima. Raspršena se zraka hvata fotodiodama koje su postavljene pod određenim kutovima i preko leća šalje do fotodetektora. Rasap zrake svjetlosti pod kutem od  $0^\circ$  korelira s veličinom stanice (prednje raspršenje – engl. forward scatter, FSC), a pod kutem od  $90^\circ$  korelira sa stupnjem unutrašnje složenosti stanice (bočno raspršenje - engl. side scatter, SSC). Na DNA i RNA stanice vezana je fluorescentna boja polimetin. Kada se takva stanica obasja zrakom svjetlosti, emitira se svjetlost veće valne duljine od prvotne zrake svjetlosti (bočna fluorescencija - engl. side fluorescence light, SFL). Jakost fluorescentnog signala povećava se s povećanjem koncentracije vezane boje unutar stanice, odnosno s povećanjem udjela RNA i DNA u stanici (9).

#### 4.4. Statističke metode

Za opis distribucije frekvencija istraživanih varijabli upotrijebljene su deskriptivne statističke metode. Sve varijable testirane su na normalnost distribucije Kolmogorov-Smirnovljevim testom te u ovisnosti o rezultatu za njihovu daljnju obradu primijenjene su parametrijske ili neparametrijske metode (10). Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom u slučaju raspodjela koje slijede normalnu, a u ostalim slučajevima medijanom i granicama interkvartilnog raspona.

Za utvrđivanje razlika među proporcijama između dva nezavisna uzorka korišten je  $\chi^2$ -test i Fisherov egzaktni test (10). Značajnost razlika utvrđenih statističkim testiranjem iskazana je na razini  $p < 0,05$ . U obradi podataka upotrijebljeni su izvorno pisani programi za baze podataka te statistički paket Statistica for Windows 2010 (inačica 10.0, StatSoft Inc., Tulsa, OK).

## 5. Rezultati

### 5.1. Demografske osobine ispitanika te vrijednosti odabranih pokazatelja u njihovoj krvnoj slici

Statističkom analizom obrađeni su podatci dobiveni od 78 oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske; 57,7 % (45/78) oboljelih od Crohnove bolesti te 42,3 % (33/78) oboljelih od ulceroznog kolitisa; 51,3 % (40/78) muškaraca te 48,7 % (38/78) žena. Prosječna dob svih ispitanika bila je 39 godina (raspon od 22 do 69 godina).

Istraživanje nije utvrdilo statistički značajne razlike prema spolu u odnosu na vrstu upalne bolesti crijeva od koje ispitanici boluju ( $\chi^2$ -test;  $p = 0,252$ ) (Tablica 1).

Tablica 1. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske prema vrsti upalne bolesti crijeva od koje boluju i spolu

Vrsta upalne bolesti crijeva	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Muško	Žensko		
Crohnova bolest	26 (65,0 %)	19 (50,0 %)	45 (57,7 %)	0,252
Ulcerozni kolitis	14 (35,0 %)	19 (50,0 %)	33 (42,3 %)	
Ukupno	40 (100 %)	38 (100 %)	78 (100 %)	

\* $\chi^2$ -test

Analizirajući ispitanike prema dobi, pri čemu su svi podijeljeni na dvije dobne skupine: mlađu (22 - 44 godine) te stariju (45 i više godina) istraživanje je pokazalo kako je u uzorku ispitanika bilo 64,1 % (50/78) ispitanika mlađe dobi te 35,9 % (28/78) ispitanika starije dobi. Istraživanje nije utvrdilo statistički značajne razlike prema vrsti upalne bolesti crijeva od koje ispitanici boluju u odnosu na dobnu skupinu kojoj pripadaju ( $\chi^2$ -test;  $p = 0,157$ ) (Tablica 2).

Tablica 2. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske prema dobnoj skupini kojoj pripadaju te vrsti upalne bolesti crijeva od koje boluju

Dobna skupina ispitanika	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Crohnova bolest	Ulcerozni kolitis		
Mlađa (22 - 44 godina)	32 (71,1 %)	18 (54,5 %)	50 (64,1 %)	0,157
Starija (45 i više godina)	13 (28,9 %)	15 (45,5 %)	28 (35,9 %)	
Ukupno	45 (100 %)	33 (100 %)	78 (100 %)	

\* $\chi^2$ -test

U Tablici 3. prikazane su prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske u usporedbi s referentnim vrijednostima za muškarce.

Tablica 3. Prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske

Krvni pokazatelj	Vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske (N = 26)			Referentni raspon vrijednosti za muškarce
	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
Hemoglobin	87	156	138,50 (17,18)	138 - 175 g/L
Hematokrit	0,285	0,466	0,41 (0,04)	0,415 - 0,530 L/L
Ukupna sposobnost vezanja željeza	44,8	97	62,27 (13,32)	36,0 - 75,0 $\mu\text{mol/l}$
Nezasićeni slobodni transferin	25	89,3	44,37 (14,79)	25,0 - 54,0 $\mu\text{mol/l}$
Transferin	2	4,28	2,70 (0,52)	2,0 - 3,60 g/l
Saturacija transferina	5	74	28,69 (15,12)	16 - 45 %
Feritin	3,8	320,4	93,25 (84,13)	30,0 - 300,0 $\mu\text{g/l}$
Željezo	3,5	34,9	15,43 (7,36)	11,0 - 32,0 $\mu\text{mol/l}$
Prosječni volumen eritrocita	74,2	97,2	86,64 (5,82)	83,0 - 97,2 fL
Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu	22,7	33,0	29,03 (2,70)	27,4 - 33,9 pg
Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	298	352	334,65 (14,02)	320 - 345 g/L
Eritrociti	3,84	5,68	4,77 (0,45)	4,34 - 5,72 $\cdot 10^{12}/\text{L}$
Retikulociti	7,0	23,4	12,09 (3,98)	5,0 - 21,6 $\cdot 10^3/\text{E}$
C-reaktivni protein	4	15,9	4,44 (4,45)	< 5,0 mg/L

U Tablici 4. prikazane su prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske u usporedbi s referentnim vrijednostima za žene.



Tablica 4. Prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske

Krvni pokazatelj	Vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od Crohnove bolesti s područja istočne Hrvatske (N = 19)			Referentni raspon vrijednosti za žene
	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
Hemoglobin	92	137	119,74 (13,22)	119 – 157 g/L
Hematokrit	0,314	0,411	0,368 (0,031)	0,356 – 0,470 L/L
Ukupna sposobnost vezanja željeza	39,8	74,0	60,45 (8,44)	36,0-75,0 $\mu\text{mol/l}$
Nezasićeni slobodni transferin	26,4	70,2	49,76 (11,29)	25,0-59,0 $\mu\text{mol/l}$
Transferin	1,67	3,29	2,67 (0,39)	2,0-3,60 g/l
Saturacija transferina	3	34	18,37 (10,26)	16-45 %
Feritin	4,8	98,2	29,33 (26,75)	10,0-120,0 $\mu\text{g/l}$
Željezo	2,3	21,8	10,69 (5,71)	8,0-32,0 $\mu\text{mol/l}$
Prosječni volumen eritrocita	75,5	96,7	86,48 (5,19)	83,0-97,2 fL
Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu	22,2	32,1	28,16 (2,69)	27,4-33,9 pg
Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	293	345	325 (15,74)	320-345 g/L
Eritrociti	3,60	4,91	4,26 (0,34)	$3,86-5,08 \cdot 10^{12}/\text{L}$
Retikulociti	6,1	20,0	10,10 (3,36)	$5,0 - 21,6 \cdot 10^3/\text{E}$
C-reaktivni protein	0,5	24,2	28,16 (2,69)	< 5,0 mg/L

U Tablici 5. prikazane su prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske u usporedbi s referentnim vrijednostima za muškarce.

Tablica 5. Prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske

Krvni pokazatelj	Vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi muškaraca oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske (N = 14)			Referentni raspon vrijednosti za muškarce
	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
Hemoglobin	107	160	140,86 (14,54)	138 – 175 g/L
Hematokrit	0,342	0,482	0,43 (0,035)	0,415 - 0,530 L/L
Ukupna sposobnost vezanja željeza	26,1	82,2	56,96 (12,69)	36,0 - 75,0 $\mu\text{mol/l}$
Nezasićeni slobodni transferin	20,9	64,5	44,05 (12,09)	25,0 - 54,0 $\mu\text{mol/l}$
Transferin	1,21	3,70	2,53 (0,58)	2,0 - 3,60 g/l
Saturacija transferina	13	49	23,14 (9,52)	16 – 45 %
Feritin	30,9	625,1	150,6 (168,72)	30,0 - 300,0 $\mu\text{g/l}$
Željezo	5,2	21,4	12,91 (4,91)	11,0 - 32,0 $\mu\text{mol/l}$
Prosječni volumen eritrocita	80,5	106,7	89,04 (7,12)	83,0 - 97,2 fL
Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu	24,8	37,8	29,44 (3,37)	27,4 - 33,9 pg
Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	299	354	330,14 (16,36)	320 – 345 g/L
Eritrociti	4,02	5,67	4,81 (0,51)	$4,34 - 5,72 \cdot 10^{12}/\text{L}$
Retikulociti	8,6	29,9	14,31 (5,64)	$5,0 - 21,6 \cdot 10^3/\text{E}$
C-reaktivni protein	0,2	27,1	5,26 (7,72)	< 5,0 mg/L

U Tablici 6. prikazane su prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske u usporedbi s referentnim vrijednostima za žene.

Tablica 6. Prosječne vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske

Krvni pokazatelj	Vrijednosti odabranih pokazatelja u krvi žena oboljelih od ulceroznog kolitisa s područja istočne Hrvatske (N=19)			Referentni raspon vrijednosti za žene
	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
Hemoglobin	113	139	125,00 (8,18)	119 - 157 g/L
Hematokrit	0,348	0,421	0,382 (0,02)	0,356-0,470 L/L
Ukupna sposobnost vezanja željeza	43,1	75,4	59,64 (7,97)	36,0-75,0 $\mu\text{mol/l}$
Nezasićeni slobodni transferin	26	70,4	46,52 (11,62)	25,0-59,0 $\mu\text{mol/l}$
Transferin	1,76	3,47	2,65 (0,41)	2,0-3,60 g/l
Saturacija transferina	7	44	22,89 (11,35)	16-45 %
Feritin	7,2	288,2	58,60 (72,72)	10,0-120,0 $\mu\text{g/l}$
Željezo	5,0	24,2	13,12 (5,84)	8,0-32,0 $\mu\text{mol/l}$
Prosječni volumen eritrocita	82,4	101,9	89,05 (4,77)	83,0-97,2 fL
Prosječna količina hemoglobina u eritrocitu	25,5	32,2	29,12 (1,94)	27,4-33,9 pg
Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	308	351	326.79 (10.00)	320-345 g/L
Eritrociti	3,66	4,83	4,30 (0,32)	$3,86-5,08 \cdot 10^{12}/\text{L}$
Retikulociti	7,8	14,7	10,97 (1,76)	$5,0 - 21,6 \cdot 10^3/\text{E}$
C-reaktivni protein	0,3	7,0	2,48 (2,08)	< 5,0 mg/L

## 5.2. Učestalost i vrsta anemije kod ispitanika

Dijagnoza anemije postavljena je temeljem kriterija Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) koji navodi kako je anemija određena koncentracijom hemoglobina pri čemu je ona kod muškaraca prisutna ako je koncentracija hemoglobina niža od 130,0 g/L, a kod žena ako je koncentracija hemoglobina niža od 120,0 g/L (11). Spomenuti kriterij korišten je za utvrđivanje postojanja anemije kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske.

Dijagnoza sideropenične anemije postavljena je temeljem sljedećih kriterija: razina hemoglobina < 13 g/dL za muškarce, < 12 g/dL za žene, TfS < 20 %, razina feritina < 30 ng/mL, a zasićenost transferina (TSAT) < 16 %, MCH < 27 pg, MCV < 80 (12).

Dijagnoza anemije kronične bolesti postavljena je temeljem sljedećih kriterija: razina hemoglobina < 13 g/dL, < 12 g/dL za žene, TfS < 20 %, CRP vrijednosti povišene uz TSAT < 16 % i feritin u intervalu 30 - 100 ng/mL (12).

Navedeni kriteriji korišteni su za utvrđivanje vrste anemije kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske.

Istraživanje je pokazalo kako je anemija prisutna kod 24,4 % (19/78) svih ispitanika. Prema vrsti anemije, u 63,2 % (12/19) slučajeva riječ je o sideropeničnoj anemiji, a u 36,8 % (7/19) slučajeva riječ je o anemiji kronične bolesti.

U Tablici 7. prikazano je postojanje anemije kod ispitanika u odnosu na vrstu upalne bolesti crijeva od koje boluju te je utvrđeno kako nema statistički značajne razlike u učestalosti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa ( $\chi^2$ -test;  $p > 0,950$ ).

Tablica 7. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske prema postojanju anemije te vrsti upalne bolesti crijeva od koje boluju

Postojanje anemije	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Crohnova bolest	Ulcerozni kolitis		
Ne	34 (75,6 %)	25 (75,8 %)	59 (75,6 %)	>0,950
Da	11 (24,4 %)	8 (24,2 %)	19 (24,4 %)	
Ukupno	45 (100 %)	33 (100 %)	78 (100 %)	

\* $\chi^2$ -test

U Tablici 8. prikazano je postojanje anemije kod ispitanika u odnosu na njihov spol te je utvrđeno kako nema statistički značajne razlike u učestalosti anemije između oboljelih muškaraca i žena ( $\chi^2$ -test;  $p = 0,066$ ).

Tablica 8. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske prema postojanju anemije te njihovom spolu

Postojanje anemije	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Muško	Žensko		
Ne	34 (85,0 %)	25 (65,8 %)	59 (75,6 %)	0,066
Da	6 (15,0 %)	13 (34,2 %)	19 (24,4 %)	
Ukupno	40 (100 %)	38 (100 %)	78 (100 %)	

\* $\chi^2$ -test

U Tablici 9. prikazana je vrsta utvrđene anemije kod ispitanika u odnosu na vrstu upalne bolesti crijeva od koje boluju te je utvrđeno kako nema statistički značajne razlike u vrsti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa (Fisherov egzaktni test;  $p = 0,377$ ).

Tablica 9. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske kod kojih je utvrđeno postojanje anemije prema vrsti utvrđene anemije te vrsti upalne bolesti crijeva od koje boluju

Vrsta utvrđene anemije	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Crohnova bolest	Ulcerozni kolitis		
Sideropenična anemija	8 (72,7 %)	4 (50,0 %)	12 (63,2 %)	0,377
Anemija kronične bolesti	3 (27,3 %)	4 (50,0 %)	7 (36,8 %)	
Ukupno	11 (100 %)	8 (100 %)	19 (100 %)	

\*Fisherov egzaktni test

U Tablici 10. prikazana je vrsta utvrđene anemije kod ispitanika u odnosu na njihov spol te je utvrđeno kako nema statistički značajne razlike u učestalosti pojedinih vrsta anemija između oboljelih muškaraca i žena (Fisherov egzaktni test;  $p > 0,950$ ).

Tablica 10. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske kod kojih je utvrđeno postojanje anemije prema vrsti utvrđene anemije te njihovom spolu

Vrsta utvrđene anemije	Broj ispitanika (%)		Ukupno	p*
	Muško	Žensko		
Sideropenična anemija	4 (66,7 %)	8 (61,5 %)	12 (63,2 %)	>0,950
Anemija kronične bolesti	2 (33,3 %)	5 (38,5 %)	7 (36,8 %)	
Ukupno	6 (100 %)	13 (100 %)	19 (100 %)	

\*Fisherov egzaktni test

### 5.3. Međuodnos između pojavnosti anemije kod ispitanika te vrijednosti C-reaktivnog proteina u njihovoj krvi kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale

U Tablici 11. prikazano je postojanje anemije kod ispitanika u odnosu na vrijednost C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale te je utvrđeno kako je kod osoba s aktivnom bolešću (kod kojih je vrijednost CRP-a iznosila 5,0 ili više mg/L) statistički značajno češće utvrđeno postojanje anemije u odnosu na osobe s inaktivnom bolešću (kod kojih je vrijednost CRP-a iznosila manje od 5,0 mg/L) ( $\chi^2$ -test;  $p = 0,043$ ).

Tablica 11. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske prema postojanju anemije te vrijednosti C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale

Postojanje anemije	Aktivnost bolesti prema utvrđenoj vrijednosti CRP-a		Ukupno	p*
	Inaktivna bolest (CRP < 5,0)	Aktivna bolest (CRP 5,0 ili >)		
Ne	46 (82,1 %)	13 (59,1 %)	59 (75,6 %)	0,043
Da	10 (17,9 %)	9 (40,9 %)	19 (24,4 %)	
Ukupno	56 (100 %)	22 (100 %)	78 (100 %)	

\* $\chi^2$ -test

U Tablici 12. prikazana je vrsta utvrđene anemije kod ispitanika u odnosu na vrijednost C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale te je utvrđeno kako nema statistički značajne razlike u učestalosti pojedinih vrsta anemija u odnosu na aktivnost bolesti kod oboljelih mjerenu neizravno preko vrijednosti C-reaktivnog proteina u njihovoj krvi (Fisherov egzaktni test;  $p = 0,170$ ).



Tablica 12. Oboljeli od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske kod kojih je utvrđeno postojanje anemije prema vrsti utvrđene anemije te vrijednosti C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale

Vrsta anemije	Aktivnost bolesti prema utvrđenoj vrijednosti CRP-a		Ukupno	p*
	Inaktivna bolest (CRP < 5,0)	Aktivna bolest (CRP 5,0 ili >)		
Sideropenična anemija	8 (80,0 %)	4 (44,4 %)	12 (63,2 %)	0,170
Anemija kronične bolesti	2 (20,0 %)	5 (55,6 %)	7 (36,8 %)	
Ukupno	10 (100 %)	9 (100 %)	19 (100 %)	

\*Fisherov egzaktni test

## 6. Rasprava

Obrađeni su podatci dobiveni od 78 oboljelih pacijenata od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske; 57,7 % oboljelih od Crohnove bolesti te 42,3 % oboljelih od ulceroznog kolitisa; 51,3 % muškaraca te 48,7 % žena. Ustanovljeno je da je anemija prisutna kod 24 % pacijenata oboljelih od upalnih bolesti crijeva (24 % oboljelih od Crohnove bolesti, te 24 % oboljelih od ulceroznog kolitisa) što odgovara intervalu učestalosti prethodnih istraživanja. Prema preglednom radu koji obuhvaća rezultate europskih istraživanja između 2007. i 2012. nađena je anemija kod 27 % pacijenata s Crohnovom bolesti i 21 % s ulceroznim kolitisom (11). Učestalost anemije kod bolesnika s upalnom bolesti crijeva prema ostalim preglednim radovima je između 6 % i 74 %, a prema novijim preglednim radovima učestalost je 17 % (16 % kod vanjskih pacijenata i 68 % kod hospitaliziranih pacijenata) (12).

Iz rezultata je vidljivo da ne postoji razlika u pojavnosti anemije kod pacijenata iz CD i UC grupa što je suprotno očekivanjima. Prema rezultatima ostalih istraživanja, anemija je učestalija kod pacijenata s Crohnovom bolesti, nego kod pacijenata s ulceroznim kolitisom. Osim gubitka intestinalne krvi koji je čest kod obje bolesti, pacijenti koji pate od Crohnove bolesti na višim gastrointestinalnim regijama (jedanaesnik, ileum) izloženi su posebnom riziku niske apsorpcije željeza koji vodi do anemije (11). U ovome istraživanju ta razlika nije bila očita.

Anemija je bila prisutna kod 15 % muške populacije i 34 % ženske populacije s crijevnim upalnim bolestima. Ta razlika, iako nije statistički značajna zbog malog uzorka, upućuje na zaključak da gubitak krvi tijekom menstruacije kod žena može utjecati na gubitak željeza. Istraživanje provedeno 2015. u Italiji nije pronašlo razliku učestalosti anemije kod spolova (12).

Prema vrsti prisutne anemije kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske, u 63 % slučajeva bila je riječ o sideropeničnoj anemiji, a u 37 % slučajeva bila je riječ o anemiji kronične bolesti što odgovara literaturnim pregledima prema kojima se sideropenična anemija javlja kod 36 – 76 % pacijenata. Prema talijanskom istraživanju iz 2015. sideropenična anemija bila je prisutna kod 54 %, a anemija kronične bolesti kod 8 % slučajeva (12). Istraživanje u Rumunjskoj iz 2014. prijavilo je 53 % slučajeva sideropenične anemije kod pacijenata s IBD-om (13). Glavni razlozi nedostatka željeza kod pacijenata s

IBD-om su oštećena sluznica na crijevima koja ima smanjenu apsorpciju hranjivih sastojaka kod pacijenata s Crohnovom bolešću (posebice onih kod kojih bolest zahvaća gornje dijelove gastrointestinalnog trakta) te redovito krvarenje iz oštećene sluznice crijeva kod pacijenata, pogotovo onih s ulceroznim kolitisom. Anemija kronične bolesti je prema preglednim radovima slabije učestala i javlja se zbog poremećaja u eritropoezi. Kronična upala smanjuje učinkovitost eritropoeze ometanjem sinteze i biološke aktivnosti eritropoetina (12).

Sideropenična anemija bila je prisutna kod osam oboljelih od Crohnove bolesti, dok je troje iz te skupine pokazalo znakove anemije kronične bolesti. Kod grupe oboljelih od ulceroznog kolitisa, četvero je bolovalo od sideropenične anemije, a četvero od anemije kronične bolesti. S obzirom na mali uzorak, nema statistički značajne razlike u vrsti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa. Učestalost sideropenične anemije kod pacijenata s IBD-om u istočnoj Hrvatskoj (63 %) nešto je veća u usporedbi s istraživanjima ostalih europskih susjeda (Italija, Rumunjska), ali je i dalje unutar intervala ostalih preglednih radova (11-13).

Aktivnost bolesti mjeri se pomoću C-reaktivnog proteina (CRP); vrijednost CRP-a veća od 5 mg/L upućuje na aktivnu bolest, a manja od 5 mg/L na inaktivnu. Kod osoba oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske s aktivnom bolešću, anemija je bila prisutna u 41 % slučajeva, a u 18 % slučajeva kod pacijenata s inaktivnom bolešću. Ti rezultati odgovaraju rezultatima ranijih istraživanja koja su u vezu dovela aktivnost bolesti s pojavom anemije kod pacijenata s IBD-om. Istraživanje iz 2015. s područja Italije prijavilo je anemiju kod 34 % pacijenta s aktivnom Crohnovom bolešću, naspram 16 % s inaktivnom bolešću (12).

Postoji nekoliko ograničenja ovog istraživanja zbog kojih dobivene rezultate treba tumačiti s oprezom. Prvo ograničenje odnosi se na veličinu uzorka ispitanika te njegovu reprezentativnost za sve oboljele od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske. Naime, uzorak je brojčano ograničen i sudjelovanje u ispitivanju bilo je dobrovoljno zbog čega je moguće da neke osobe sa simptomima anemije nisu uključene u istraživanje unatoč visokoj stopi odgovora. Uz to, iz dobi uključenih ispitanika vidljivo je kako prevladavaju mlađe osobe iz čega slijedi kako su vjerojatno uključene osobe kod kojih je bolest nedavno dijagnosticirana te koje nadležni liječnici učestalije upućuju na laboratorijske pretrage krvi u odnosu na bolesnike koji duže boluju od upalnih bolesti crijeva zbog čega je utvrđena

učestalost anemije kod oboljelih moguće čak i podcijenjena. Drugo ograničenje vezano je uz izostanak prikupljanja dodatnih anamnestičkih podataka upitnikom zbog čega nije poznato uzimaju li možda ispitanici neke preparate željeza s ciljem otklanjanja anemije, a što je također moglo dovesti do podcjenjivanja učestalosti anemije u ispitivanoj populaciji. Treće ograničenje ovog istraživanja vezano je uz njegov ustroj jer je poznato kako je kod presječnih istraživanja teško nedvosmisleno potvrditi postojanje uzročno-posljedične veze između promatranih varijabli zbog čega utvrđenu povezanost između postojanja anemije te aktivnosti bolesti treba tumačiti sa zadrškom.

Unatoč opisanim ograničenjima, ovo je istraživanje ukazalo na relativno veliku učestalost pojavljivanja anemije kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva na području istočne Hrvatske što ima značajan utjecaj na terapijski pristup oboljelima. Imajući na umu kako anemija značajno narušava već i tako narušenu kvalitetu života oboljelih, ukazuje se jasna potreba za njezinim otkrivanjem i adekvatnim liječenjem u ovoj skupini bolesnika. K tome, utvrđena povezanost između postojanja anemije te aktivnosti bolesti utvrđene neizravno preko vrijednosti C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih, može ukazivati i na činjenicu kako upravo postojanje anemije može ukazati na pogoršanje bolesti odnosno na teži oblik bolesti kao i na potrebu za dodatnim potpornim liječenjem ovog ekstraintestinalnog simptoma bolesti koji značajno utječe na ukupnu kvalitetu života oboljelih.

## 7. Zaključci

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Provedeno istraživanje potvrdilo je kako je anemija značajna ekstraintestinalna komplikacija upalnih bolesti crijeva budući se javlja kod gotovo četvrtine ispitanika uključenih u ovo istraživanje, pri čemu je u dvije trećine slučajeva riječ o o sideropeničnoj anemiji.
- Prethodno navedeno jasno ukazuje kako slijedom izostanka liječenja anemije u sklopu upalne bolesti crijeva anemija predstavlja značajan dodatni simptom odnosno komplikaciju kod oboljelih.
- Istraživanje pojavnosti anemije među oboljelima od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske pokazalo je kako nema značajne razlike u učestalosti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa te kako ujedno nema značajne razlike u vrsti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa.
- Naposljetku, ovo je istraživanje pokazalo kako je kod osoba oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske s aktivnom bolešću (kod kojih je vrijednost CRP-a iznosila 5,0 ili više mg/L) značajno češće utvrđeno postojanje anemije u odnosu na osobe oboljele od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske s inaktivnom bolešću (kod kojih je vrijednost CRP-a iznosila manje od 5,0 mg/L).

## 8. Sažetak

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učestalost i vrstu anemije u odraslih osoba oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske te utvrditi postoji li povezanost između pojavnosti anemije te vrijednosti C-reaktivnog proteina u krvi oboljelih kao neizravnog pokazatelja aktivnosti upale.

**Ispitanici i metode:** Provedeno istraživanje ustrojeno je po načelu *cross-sectional* studije odnosno kao tipična metoda istraživanja presjeka ili prevalencije.

U istraživanje je uključeno ukupno 78 oboljelih od upalnih bolesti crijeva s područja istočne Hrvatske u rasponu od 22 do 69 godina. Korištene su sljedeće laboratorijske analize za dokazivanje anemije: određivanje željeza u serumu, transferina, feritina, TIBC-a, UIBC-a, C-reaktivnog proteina, kompletne krvne slike i retikulocita.

**Rezultati:** Ovim istraživanjem utvrđena je prisutnost anemije kod 24,4 % ispitanika. Prema vrsti anemije, u 63,2 % slučajeva riječ je o sideropeničnoj anemiji, a u 36,8 % slučajeva riječ je o anemiji kronične bolesti. Nema statistički značajne razlike u učestalosti i vrsti anemije između oboljelih od Crohnove bolesti te oboljelih od ulceroznog kolitisa. Kod osoba s aktivnom bolešću statistički je značajno češće utvrđeno postojanje anemije u odnosu na osobe s inaktivnom bolešću.

**Zaključak:** Anemija je značajna ekstraintestinalna komplikacija upalnih bolesti crijeva te kako slijedom izostanka liječenja anemije u sklopu upalne bolesti crijeva anemija predstavlja značajan dodatni simptom odnosno komplikaciju kod oboljelih.

**Ključne riječi:** anemija; Crohnova bolest; Hrvatska; ulcerozni kolitis; upalna bolest crijeva.

## 9. Summary

### **Anaemia and inflammatory bowel diseases**

**Objectives:** The aim of this study was to determine the frequency and type of anaemia in adult patients with inflammatory bowel disease in the Eastern Croatia. Furthermore, the aim was to examine whether there is correlation between the incidence of anaemia and the value of C-reactive protein in patients' blood, which could be considered an indirect indicator of the inflammation.

**Participants and methods:** The study is organized as a cross-sectional study, i. e. cross-section and prevalence survey method. The study included 78 patients with IBD from Eastern Croatia 22 – 69 years of age. The following laboratory analyses for the detection of anaemia were used: serum levels of iron, transferrin, ferritin, TIBC, UIBC, C-reactive protein, complete blood count and reticulocyte count.

**Results:** comorbidity present in 24.4% of patients with inflammatory bowel disease in Eastern Croatia. Anaemia was present in 24.4% of the subjects. According to the type of anaemia, in 63.2% of cases it is sideropenic anaemia, and in 36.8% of cases the chronic disease anaemia. Statistically significant differences were not found in the frequency and type of anaemia in patients with Crohn's disease in relation to patients with ulcerative colitis. In patients with active illness, there is a statistically significant increase in the presence of anaemia in relation to patients with inactive disease.

**Conclusion:** Anaemia is a significant extra-intestinal complication of inflammatory bowel disease and in the absence of the treatment of anaemia within the inflammatory bowel disease it is a significant additional symptom or complication in the affected population.

**Keywords:** anaemia; Croatia; Crohn disease; inflammatory bowel disease; ulcerative colitis.

## 10. Literatura

1. Podolsky DK. Inflammatory Bowel Disease. N Engl J Med. 2002; 347:417.
2. Zhen Zhang Y, Yu Li Y. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. World J Gastroenterol. 2014;20:91-9.
3. Včev A. Bolesti debelog crijeva. Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2002. str. 187-204.
4. Pulanić D, Včev A. Anemija – Jedna od najčešćih bolesti ili znakova bolesti u medicini. Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2014. str. 5-12.
5. Testa A, Rispo A, Romano M, Riegler G, Selvaggi F, Bottiglieri E i sur. The burden of anaemia in patients with inflammatory bowel diseases. Dig Liver Dis. 2016;48:267-70.
6. Filmann N, Rey J, Schneeweiss S, Ardizzone S, Bager P, Bergamaschi G, i sur. Prevalence of anemia in inflammatory bowel diseases in European countries: a systematic review. Inflamm. Bowel Dis. 2014; 20:936-45.
7. Kolčić I, Biloglav Z. Presječno istraživanje. U: Kolčić I, Vorko-Jović A. Epidemiologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2012.
8. RF/DC Method. Dostupno na stranici: <http://www.sysmex.co.jp>. Datum pristupa: 1.4.2017.
9. Šahinović I. Usporedba dva hematološka brojača u točnosti mjerenja uzoraka dobivenih leukaferozom. Diplomski rad. Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 2010.
10. Petrie A, Sabin C. Medical Statistics at a Glance. London: Blackwell Science Ltd; 2000.
11. Murawska N, Fabisiak A, Fichna, J. Anemia of Chronic Disease and Iron Deficiency Anemia in Inflammatory Bowel Diseases: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Inflamm Bowel Dis. 2015;20: 1-11.
12. Guagnozzi D, Lucendo AJ. Anemia in inflammatory bowel disease: A neglected issue with relevant effects. World J Gastroenterol. 2014; 20: 3542-51.
13. Lupu A, Diculescu M, Diaconescu R, Tantau M, Tantau A, Visovan I, i sur. Prevalence of Anemia and Iron Deficiency in Romanian patients with IBD: a Prospective Multicenter study. J Gastrointest Liver Dis. 2015; 24: 15-20.



## 11. Životopis

### Osobni podatci:

Ime i prezime: Božidar Stojanac

Datum rođenja: 15.3.1972.

Adresa: Andrije Kačića Miošića 3 a, Čepin

Broj telefona: 091/576 3434

E-mail adresa: bozo.stojanac@gmail.com

### Obrazovanje:

- Osnovna škola „Anka Butorac“ u Osijeku
- Srednja Medicinska škola u Osijeku, 1987. – 1991.
- Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilišni preddiplomski studij biomedicinsko laboratorijskih tehnologija, 2011. – 2014.

### Radno iskustvo:

- Klinička bolnica Osijek, pripravnički staž 1993. – 1994.
- Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC Osijek, 1994. – danas